

عوامل اسهالهای باکتریال اطفال زیر دو سال در بیمارستان بروجن

سیف اله برجیان *

چکیده:

در یک مطالعه توصیفی و مقطعی بمنظور شناسایی باکتریهای مولد اسهال در اطفال زیر دو سال تعداد ۲۵۹ نمونه مدفوع از کودکان بیماری که در طی ۱۴ ماه، از اول آبانماه ۱۳۷۵ تا آخر آذر ماه ۱۳۷۶، بر اساس تشخیص بالینی توسط پزشکان در مرکز آموزشی درمانی حضرت ولی عصر (عج) شهرستان بروجن در استان چهارمحال و بختیاری بستری شدند، مورد بررسی آزمایشگاهی قرار گرفتند. باکتریهای جدا شده از بیماران ۴۶ مورد بوده که به ترتیب گونه‌های شیگلا جمعاً با ۴۳/۴۸ درصد «شیگلا فلکسنری ۲۳/۹۱ درصد، شیگلا دیسانتریه ۱۰/۸۷ درصد، شیگلا سونه‌ای و بویدی هر کدام ۴/۳۵ درصد»، اشرشیاکلی انتروپاتوژن با ۳۰/۴۳ درصد، گونه‌های کلیسیلا و پروتئوس هر کدام ۶/۵۲ درصد، سالمونلاتیفی و پاراتیفی B هر کدام با ۴/۳۵، و دو مورد مشکوک به یرسینیانتروکولیتیکا با ۴/۳۵ درصد، باکتریهای جدا شده را شامل گردیدند. کودکان مورد مطالعه در سه گروه سنی نوزادان (۱-۲۹ روزه)، کودکان ۱-۶ ماهه و کودکان ۷-۲۴ ماهه قرار داشتند. بیشترین موارد ابتلاء مربوط به گروه سنی ۷-۲۴ ماهه بود (۷۱/۴۳ درصد) و گروههای سنی ۱-۶ ماهه و نوزادان به ترتیب با ۲۶/۶۴ و ۱/۹۳ درصد در رده‌های بعدی درصد ابتلا قرار گرفتند. علاوه بر این، اطلاعات حاصل از این تحقیق نشان داد که حداکثر شیوع بیماری مربوط به تابستان و اوائل پائیز می‌باشد که ۴۸/۲۵ درصد از بیماران و ۵۴/۳۵ درصد از ارگانیزم‌های جدا شده را شامل می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بیماریهای عفونی، اسهال‌های باکتریایی

مقدمه:

عفونت‌های دستگاه گوارش بویژه اسهالهای باکتریال از متداولترین بیماریهای عفونی ناتوان کننده بوده که می‌توانند انسانها را در هر گروه سنی به خصوص سنین کودکی و در تمام دنیا تهدید نمایند. در بسیاری از نواحی پر جمعیت، مرگ و میر ناشی از اسهال‌های باکتریایی بر بیماریهای دیگر فزونی داشته و میزان تلفات آن در گروه سنی نوزادان و اطفال ۱۳ تا ۲۰ درصد گزارش شده است (۲۱،۳). عفونت‌های باکتریایی دستگاه گوارش در کودکان محروم از شیر مادر یا آنهایی که دچار فقر غذایی هستند یک عامل تهدید کننده

سلامتی محسوب می‌شوند. فاکتورهای متعدد اپیدمیولوژیک از قبیل فاکتورهای میزبانی نظیر سن، جنس، شرایط تغذیه‌ای و عادات فرهنگی و فاکتورهای محیطی نظیر محل زندگی، شرایط اقلیمی، آب و هوا، ازدحام جمعیت، تسهیلات بهداشتی و منابع آب و غذا، در میزان شیوع عوامل بیماریزای روده‌ای از جمله باکتریها بسیار مؤثر است (۱،۱۳،۱۷،۲۵). تقریباً تمامی ارگانیزم‌های پاتوژن گوارشی از راه مدفوعی - دهانی (Fecal - oral) وارد بدن شده و منشأ آنها روده انسان و حیوانات می‌باشد (۲۱). این ارگانیزم‌ها از طریق

* عضو هیأت علمی گروه میکروبیولوژی - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

مکانیسم‌های متعددی نظیر اتصال (Attachment)، تهاجم (Invasion) و یا تولید سموم (Toxins) پاتوژن روده‌ای از قبیل ائروتوکسین‌ها و سیتوتوکسین‌های مقاوم یا حساس به حرارت باعث التهاب و تخریب مخاط روده گردیده و در تعادل دو طرفه آب و الکترولیت‌ها اختلال و ایجاد اسهال می‌نمایند. مدفوع آبکی و حاوی موکوس، چرک و یا خون و ارگانیسم بیمار نیز نتیجه ابتلاء به اینگونه بیماریها می‌باشد. گونه‌های سالمونلا، شیگلا و پرسیپا ائروتوکولیتیکا از گروه باکتریهای مهاجم محسوب شده و گونه‌های مختلف اشرشیاکلی بویژه اشرشیاکلی ائروتوپاتوژن (Enteropathogenic E.coli = EPEC)، و اشرشیاکلی مهاجم روده‌ای (Enteroinvasive E.coli = EIEC)، ویربوتکرا و ویربویاراهمولیتیکوس، کمپیلوباکترها، ائروموناس‌ها، کلبسیلای مولد ائروتوکسین و برخی از باکتریهای بی‌هوازی نظیر کلاستریدیم‌ها از طریق مکانیسم‌های متعدد بیماریزای خود باعث اسهال می‌شوند (۱۴، ۱۹، ۲۱، ۲۲، ۲۴).

هدف از مطالعه حاضر این بوده است که با ارائه نتایج حاصل از این تحقیق به مسئولین امور پژوهشی، بهداشتی، درمانی و پزشکان منطقه، بتوان اقدامات مفیدی را در جهت کنترل و درمان مؤثر این گونه بیماریها انجام داد، و زمینه انجام تحقیقات تکمیلی و نیز توسعه راهها و امکانات تشخیصی در مراکز آزمایشگاهی را در رابطه با این عوامل فراهم نمود.

مواد و روشها:

بیماران و نمونه‌ها:

نمونه‌های مورد بررسی عبارت بودند از نمونه مدفوع تمامی ۲۵۹ اطفال بیماری که در طی تحقیق به این بیمارستان مراجعه نموده و پس از معاینه بالینی توسط پزشکان با تشخیص اسهال در بخش‌های

اورژانس اطفال، اطفال یا نوزادان بستری شدند. این بیماران شامل مراجعین شهرستانهای بروجن، لردگان، اردل و حومه این شهرستانها بوده که در سه گروه سنی نوزادان ۱-۲۹ روزه، کودکان ۱-۶ ماهه و کودکان ۷-۲۴ ماهه تقسیم و مورد مطالعه قرار گرفت.

وسایل و مواد مورد استفاده:

۱- محیطهای کشت معمولی، افتراقی و اختصاصی شامل:

۱- ۱) آگار خوندار (Blood Agar)، آگار مغذی (Nutrient Agar)، مکانکی آگار، SIM، سلنیت F، آبگوشت اوره و آبگوشت MR - VP، ساخت شرکت تجاری مرک آلمان

۲- ۱) اتوزین متیلن بلو (EMB)، سالمونلا، شیگلا، آگار (SSA) و آب پپتونه ساخت شرکت Oxoid انگلیس
۳- ۱) محیط کشت TSI ساخت شرکت بیومریکس فرانسه

۲- آنتی سرمهای سالمونلا - شیگلا ساخت شرکت بهارافشان ایران، و آنتی سرمهای اشرشیاکلی ائروتوپاتوژن، ساخت شرکت بیومریکس فرانسه.

۳- رنگ‌های کریستال ویوله، سافرانین و فوشین، ساخت شرکت مرک آلمان.

۴- تجهیزات، شامل:

آنکوباتور ساخت شرکت Inculab ایران، فور (Oven) ساخت شرکت Memert آلمان، اتوکلاو ساخت شرکت Hirayama ژاپن، و میکروسکوپ ساخت شرکت Zeiss آلمان

۵- سایر وسایل و مواد مورد نیاز از قبیل جار بی‌هوازی، کندل جار، لام، لامل، سواب، خون، سرم فیزیولوژی، و آنتی بیوتیک (به منظور تهیه محیطهای کشت) نیز مورد استفاده قرار گرفت.

جدول شماره ۱: واکنش باکتریهای جدا شده نسبت به تست‌های افتراقی انجام شده

واکنش / جنس باکتری	گونه‌های سالمونلا	گونه‌های شیگلا	گونه‌های E.coli	گونه‌های کلبدیلا	گونه‌های پروتئوس
تخمیر گلوکز	+	+	+	+	+
تخمیر لاکتوز	-	-	+	+	-
تولید گاز	+	-	+	+	+
تولید اندول	-	-	+	-	+
حرکت در ۳۷°C	+	-	+	-	+
تولید SH2	+	-	-	-	+
مصرف سیتوات	+	-	-	+	+
آنزیم اوره آز	-	-	-	-	+
متیل رد	+	+	+	-	+
وگس پروسکانور	-	-	-	+	-

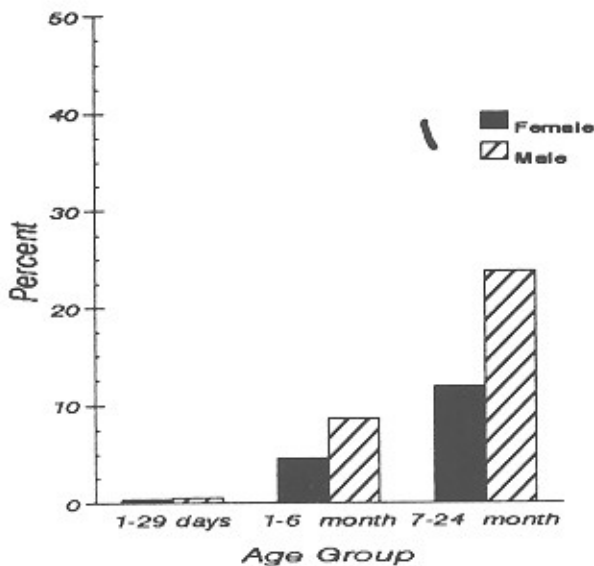
کلنی‌ها مشکوک به یرسینیا انتروکولیتیکا روی محیط مکانیکی آگار به رنگ صورتی با حاشیه کمرنگ بوده (پس از سه هفته رشد و تکثیر در محیط آب پپتونه ۲-۴ درجه سانتی گراد) و تخمیر گلوکز +، تخمیر لاکتوز -، اوره آز +، اکسیداز -، کاتالاز +، می‌باشد. تمامی باکتریهای جدا شده فوق از نظر مرفولوژی سلولی و واکنش به رنگ آمیزی گرم، باسیل گرم منفی بوده با این تفاوت که سلول کلبدیلا دارای ضخامت بیشتری است و سلول یرسینیا انتروکولیتیکا به صورت باسیل کوتاه گرم منفی دو قطبی می‌باشد.

روش مطالعه:

پس از بستری شدن بیماران و همزمان با ارسال نمونه مدفوع آنها به آزمایشگاه، مشخصات بیمار همراه با تاریخ مراجعه، سن و جنس او، با توضیحات احتمالی پزشک معالج (۶) در برگ پرسشنامه ثبت و آزمایشات لازم به صورت زیر، بر روی نمونه ارسالی انجام می‌گردید. در ابتدا نمونه از نظر ماکروسکوپی (قوام و رنگ مدفوع) بررسی و دو اسمیر جداگانه مستقیم و رنگ آمیزی شده از آن به منظور بررسی از نظر وجود عوامل بیماری‌زای باکتریایی یا انگلی، سلولهای چرکی و گلبولهای قرمز، تهیه و مورد مشاهده میکروسکوپی قرار می‌گرفت. سپس با نتایج حاصل از اسمیرها و تحلیل‌های لازم، کشت بر روی محیط‌های مورد نیاز به شرح زیر انجام می‌شد (۱۴، ۲۱). برای جداسازی گونه‌های سالمونلا، شیگلا، اشرشیاکلی و سایر باکتریهای مولد اسهال از خانواده انتروباکتریاسه، کشت بر روی محیط‌ها کشت EMB (Eosin Methylene Blue)، مکانیکی و

اختصاصاً برای جداسازی گونه‌های سالمونلا و شیگلا کشت در محیط‌های آبگوشت سلنیت F و محیط سالمونلا - شیگلا آگار (= Salmonella Shigella Agar SSA) انجام می‌گردید.

برای جداسازی احتمالی گونه‌های ویبریو از محیط TCBS (Thiosulphate Citrate Bile Sucrose Agar)، کمپیلوباکترها از محیط اسکایرو، یرسینیا انتروکولیتیکا از محیط آب پپتونه در حرارت ۴-۵°C به مدت ۲۱ روز (Cold Enrichment) و سپس کشت روی محیط مکانیکی، و برای جداسازی احتمالی کلاستریدیومها از محیط کشت آگار خوندار در شرایط بی‌هوازی استفاده می‌گردید. پس از رشد کلنی‌های میکروبی روی محیط کشت، با بررسی کلنی و انجام رنگ آمیزی گرم از باکتریهای جدا شده و تعیین مرفولوژی سلولی باکتریها، از تست‌های تکمیلی بیوشیمیایی شامل تست‌های تخمیری قندها روی محیط TSI، تست بررسی حرکت،



نمودار شماره ۱: فراوانی نسبی اسهالهای باکتریال بر حسب گروههای سنی و جنسی اطفال

بیماریا شناخته شده و اشرشیاکلی انتروپاتوژن با ۳۰/۴۳ درصد، گونه‌های کلبسیلا و پروتئوس هر کدام با ۶/۵۲ درصد، گونه‌های سالمونلا شامل سالمونلا تیفی و پاراتیفی B جمعاً با ۸/۷۰ درصد سایر باکتریهای جدا شده از بیماران کودک مبتلا به اسهال بوده‌اند. از نمونه مدفوع دو نفر از کودکان تحت بررسی، باکتریهای جدا شده مشخصات آزمایشگاهی یرسینیا انتروکولیتیکا را نشان داد ولی به دلیل در دسترس نبودن آنتی سرم مربوطه این موارد (۴/۳۵ درصد) تحت عنوان مشکوک به یرسینیا گزارش گردید (جدول شماره ۲).

در ۱۴ مورد از کل ۲۵۹ نمونه بررسی شده (۵/۴۰ درصد بیماران) با وجود بیش از ۱۵-۱۰ لکوسیت در هر میدان دید میکروسکوپی و با بکارگیری تکنیک‌های آزمایشگاهی و امکانات موجود و بدلیل محدودیت امکانات کلنی‌های رشد نموده باکتریایی تشخیص دقیق داده نشده و لذا تحت عنوان اسهال بعزل نامشخص (Unknown) گزارش گردیدند.

تولید اندول و تولید SH2 روی محیط SIM (SH2 - Indol - Motility) تست مصرف سیترات در محیط سیترات آگار و واکنش روی محیط کشت مایع MR - VP (Methyl Red - Voges Proskauer) مجموعه‌ای تحت عنوان تست‌های IMViC (Indol-Motility-Voges Proskauer-Citrate) موسومند برای تشخیص افتراقی باکتریها استفاده می‌گردید (جدول شماره ۱). گاهی برای تعیین هویت باکتری بیماریزا تست‌های افتراقی بیشتری طبق جداول موجود در رفرانس ۱۴ بر حسب نوع باکتری انجام می‌شد. در مواردی که گونه‌های سالمونلا، شیگلا و اشرشیاکلی مجزا می‌گردیدند از آنتی سرم‌های مربوطه به منظور تعیین سروتیپ یا گونه باکتری استفاده نموده و نتایج را ثبت می‌نمودیم.

نتایج:

در این مطالعه ۲۵۹ کودک شامل ۱۷۱ پسر (۶۶/۰۲ درصد) و ۸۸ دختر (۳۳/۹۸ درصد) مورد بررسی قرار گرفتند. از نظر گروههای سنی، ۷۱/۴۳ درصد از آنها در گروه سنی ۲۴-۷ ماهه، ۲۶/۶۴ درصد در گروه سنی ۶-۱ ماهه، و ۱/۹۳ درصد در گروه نوزادان قرار داشتند (نمودار شماره ۱). در ماههای تیر، مرداد، شهریور و مهر بیماری از حداکثر شیوع برخوردار بود، به صورتی که ۴۸/۲۵ درصد از کل بیماران و ۵۴/۳۵ از کل باکتریهای جدا شده مربوط به این دوره چهار ماهه بوده است. در ماههای بهمن، اسفند، فروردین و اردیبهشت شیوع بیماری حداقل بوده (۱۰/۷۸ درصد از موارد مثبت بیماری) و در شش ماه باقیمانده دوره تحقیق جمعاً ۳۴/۷۸ درصد از موارد مثبت بیماری یعنی ارگانیزم‌های بیماریزا تشخیص داده شدند.

از بین باکتریهای جدا شده گونه‌های شیگلا شامل شیگلا فلکسنری، دیسانتریه، سونه‌ای و بویدی، مجموعاً با ۴۳/۴۸ درصد، شایعترین جنس باکتریهای

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی و فراوانی نسبی باکتریهای جدا شده از بیماران

فراوانی	تعداد	درصد
نوع باکتری		
شیگلا فلکستری	۱۱	۲۳/۹۱
شیگلا دیسانتریه	۵	۱۰/۸۷
شیگلا سونه ای	۲	۴/۳۵
شیگلا بریدی	۲	۴/۳۵
EPEC	۱۴	۳۰/۴۳
سالمونلا نفی	۲	۴/۳۵
سالمونلا پاراتیفی B	۲	۴/۳۵
گونه های کلبسیلا	۳	۶/۵۲
گونه های پروتوس	۳	۶/۵۲
یرسینیا انتروکولیتیکا	۲	۴/۳۵
جمع	۴۶	۱۰۰/۱۰۰

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی و فراوانی نسبی نتایج نمونه های بررسی شده از بیماران

فراوانی	تعداد	درصد
نتایج		
موارد باکتریال	۴۶	۱۷/۷۶
موارد ناشناخته	۱۴	۵/۴۱
موارد انگلی	۱۱	۴/۲۵
موارد منفی	۱۸۸	۷۲/۵۸
جمع	۲۵۹	۱۰۰/۱۰۰

در ۱۱ مورد از نمونه های بررسی شده (۴/۲۴) درصد بیماران) تک یاخته ای هایی شامل کیست و ترفوزوئیت ژیا ردیا، آنتامبا هیستولیتیکا و آنتامبا کلی و تخم کرم های آسکاریس و هیمینولپیس نانا مشاهده شد (جدول شماره ۳).

بحث:

حضور گسترده باکتریهای عامل اسهال در سراسر جهان، فراوانی موارد ابتلاء و آسیب های ناشی از آن بویژه در کودکان، موجب شده تا تحقیقات و مطالعات

متعددی در کشورهای مختلف پیرامون شناسایی باکتریهای بیمارزا و فاکتورهای ویروالانس آنها و نیز عوامل مؤثر در میزان شیوع آنها، انجام و برنامه ریزیهای بهداشتی و درمانی بر اساس آن صورت پذیرد (۲۰،۹،۴). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می دهد که گونه های شیگلا، اشرشیاکلی اتروپاتوژن و گونه های سالمونلا شایعترین عوامل اسهالهای باکتریایی در اطفال مراجعه کننده به مرکز آموزشی درمانی بروجن بوده اند، مشابه این مطالعه از نتایج تحقیقات انجام شده در ایالات متحده، ایتالیا، هندوستان و کشور ما ایران نیز گزارش شده است (۲۲،۱۵،۸،۲).

با تحقیقاتی که در مورد خصوصیات حیاتی و فیزیولوژیکی این ارگانیسم ها و عوامل مؤثر بر شیوع و انتقال آنها بعمل آمده، می توان نتیجه گیری نمود که آب و فراورده های غذایی دامی و کشاورزی آلوده، مسیر انتقال مدفوعی - دهانی و ویژگی های بیمارزایی این باکتریها باعث شیوع بالنسبه بیشتر آنها نسبت به سایر باکتریها در نقاط مختلف دنیا و این شهرستان می باشد (۲۱،۱۱،۹،۷).

باکتریایی همچون ویبریو پاراهمولیتیکوس و سایر گونه های ویبریو، کمپیلوباکتر و آئروموناس از مراجعین و بیماران این تحقیق جدا نشدند. نتایج حاصل از مطالعاتی که در ایالات متحده و ژاپن به عمل آمده، نشان می دهد که این قبیل ارگانیسم ها اغلب در مناطق ساحلی دریاها و مناطق گرمسیر و از طریق خوردن غذاهای دریایی آلوده و یا تماس با کانونهای عفونت، باعث بیماری می شوند (۱۷،۱۲)، و لذا می توان نتیجه گیری نمود که کوهستانی بودن این منطقه و شرایط آب و هوایی آن مناسب شیوع باکتریهای فوق الذکر نبوده است. گونه های کلبسیلا (۶/۵۲ درصد) و یرسینیا انتروکولیتیکا (۴/۳۵ درصد، به طور مشکوک) باکتریهای دیگری هستند که در طی این پژوهش از بیماران جدا شده اند. گرچه در مقایسه با دیگر باکتریها

اپیدمیک و تک گیر (اسپورادیک) گزارش شده (۱۸،۱۳،۷) و در نقاط مختلف کشور ایران نیز این گونه باکتریها، بویژه شیگلا عامل بیماری معرفی شده است (۲) و با استفاده از اطلاعات حاصله از این تحقیق چنین نتیجه گیری می شود که این داده ها می تواند:

۱- زمینه انجام پژوهش های تکمیلی را در مورد این عوامل در محققین علاقه مند فراهم نماید.

۲- معرفی عوامل شایع اسهالهای باکتریایی و فصل شیوع آنها به پزشکان علاقه مند، می تواند راهنمای مناسبی در راستای درمان بیماران مربوطه قرار گیرد.

۳- تجربه و نتایج این تحقیق می تواند در توسعه بخش های آزمایشگاهی به ویژه بخش تشخیص میکروبیولوژی بالینی مؤثر واقع شود.

۴- با توجه به شعار مهم بهداشتی «پیشگیری ترجیح بر درمان»، آشنایی مسئولین امور بهداشتی شهرستان با این عوامل می تواند زمینه تحقیق پیرامون منابع آلودگی را فراهم و امکان دستیابی به راههای مناسب کنترل بیماری را میسر سازد.

تشکر و قدردانی:

از زحمات کلیه همکاران در حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه، دانشکده پرستاری بروجن، و بیمارستان حضرت ولی عصر (عج) بروجن به ویژه سرکار خانم دکتر سیما شیرانی، آقای علی همت همتی، آقای علمدار ترابی، و آقای نصراله احمدی تشکر می نماید.

از شیوع کمتری برخوردار بوده اند. ولی می توان این عوامل را بخشی از ارگانیسم های نسبتاً شایع این منطقه معرفی نمود. مشابه چنین نتایجی نیز از مطالعات انجام شده توسط Rom و Bondarev و همکاران بر روی کودکان مبتلا به اسهال گزارش شده و اشرشیاکلی انتروپاتوژن، کلیسیلای انتروتوکسیژن و یرسینیا انتروکولیتیکا را عامل بیماری معرفی نموده اند (۲۰،۵،۴).

با توجه به رشد غالب گونه های پروتئوس از نمونه مدفوع سه نفر بیماران در این تحقیق (۶/۵۲ درصد) و خصوصیات رشد این باکتری می توان نتیجه گیری نمود که مشاهده رشد این باکتری به صورت سویه غالب از نمونه این بیماران ممکن است دلیل مصرف زیاد آنتی بیوتیک یا بدنبال اسهال ناشی از باکتریهای دیگری بوده باشد (۲۴).

در زمینه شیوع فصلی اسهالهای باکتریایی در این شهرستان، حاصل این تحقیق، شیوع عوامل بیماریز را بویژه در کودکان پسر (۶۶/۰۲ درصد) و در فصل تابستان و اوایل پاییز نسبت به سایر ماههای تحقیق، نشان می دهد، تحقیقات انجام شده بر گاسترو آنتریتهای باکتریال در کودکان اسپانیا و فلوریدا نیز مشابه چنین نتایجی را ارائه می نمایند (۱۳،۱۲).

از آنجایی که شیوع اسهالهای باکتریایی در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه به صورت

منابع:

- ۱- بقایی رامین، عبقرمی شهریار، آکنایی هومان. اسهالهای عفونی حاد و مسمومیت های غذایی باکتریال. در: بقایی رامین، عبقرمی شهریار، آکنایی هومان، اصول طب داخلی هاریسون عفونت های باکتریایی. دانشگاه علوم پزشکی ایران، ۱۳۷۰، ۶۵-۲۵۱.
- ۲- فریسی قاسم، کاویان کامبیز. درمان عفونت های شیگلایی در کودکان. ماهنامه پزشکی نبض، شماره ۱۱: ۲۹-۲۵، مرداد ۱۳۷۵.
- ۳- ملک زاده فریدون، شهامت منوچهر. بیماریهایی که توسط آب و مواد غذایی منتقل می شوند، گاستروانتریتها و اسهالهای باسیلی. در: ملک زاده فریدون، شهامت منوچهر. میکروبیولوژی: از انتشارات شهر آب تهران، ۴۳-۶۸، ۱۳۷۱.
- 4- Bondarev LS.; Tuine V.; Babaev I.; Pshenichna SA. The use of intetrix inecute diarrheal disease. J Lik Sprova, (9-12): 153-5, 1995.

- 5- Burnes AP.; Fery A.; Nicolet I. Association between clinical presentation, biogroups and virulence attributes of *Yersinia enterocolitica* strains in human diarrhoeal disease. *J Epidemiol Infect*, 116(1): 27-34, 1996.
- 6- Carmeli Y., Samore M.; Shoshany O.; Rais A.; Stalin Kowitz R. Utility of clinical symptoms versus laboratory tests for evaluation of acute gastroenteritis. *J Dig Dis Sci*, 41(9): 1749-53, 1996.
- 7- Crockett CS.; Haas CN.; Fazil A.; Rose JB.; Gerba CP. Prevalence of shigellosis in the U.S. *Int J Food Microbiol*, 30(1-2): 87-99, 1996.
- 8- Das AS.; Mazumber DN.; Pal D.; Chattopadhyay VK. A study of nosocomial diarrhea in Calcutta. *Indian J Gastroenterol*, 15(1): 12-3, 1996.
- 9- Duke LA.; Breathnach AS.; Jenkins DR.; Harkis BA.; Codd AW. A Mixed outbreak of cryptosporidium and campylobacter infection associated with a private water supply. *J Epidemiol Infect*, 116(3): 303-8, 1996.
- 10- Geyid A.; Fletcher J.; Gashe BA.; Ljungh A. Invasion of tissue culture cells by diarrhoeogenic strains of *Escherichia coli*. *J FEMS Immunol Med Microbiol*, 14(1): 15-24, 1996.
- 11- Giammanco A.; Maggio M.; Giamman G.; Marelli R.; Minelli F.; Scheutz F.; Caprioli A. Characteristics of *Escherichia coli* strains belonging to enteropathogenic *E. coli* serogroups isolated in Italy from children with diarrhea. *J Clin Microbiol*, 34(3): 689-94, 1996.
- 12- Gomes Campdera J.; Munoz P.; Lopez Prieto F.; Rodriguyes Fernandez R.; Robks M.; Rodriguez M.; Bouza S. Gastroenteritis due to aeromonas in pediatrics. *J An Esp Pediatr*, 44(6): 548-52, 1996.
- 13- Hlady WG.; Klontz KC. The epidemiology of *Vibrio* infections in Florida, 1981-1993. *J Infect Dis*, 173(5): 1176-83, 1996.
- 14- Duguid JP.; Collee JG.; Fraser AG. Laboratory strategy in diagnosis of gastrointestinal infections. In: Collee JG; Duguid JP; Fraser AG; Marmion BP. *Practical medical Microbiology: From Chorcill Livingston NewYork*. 13th ed: 633-46, 1989.
- 15- Litwin CM.; Leonard RB.; Carol KC.; Drummond WK.; Pavia AT. Characterization of epidemic strains of *Shigella sonnei* by use of plasmid DNA analysis. *J Infect Dis*, 175(4): 864-70, 1997.
- 16- Nastasi A.; Mammina C. Epidemiology of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis infections in Southern Italy during the years 1980-1994. *J Res Microbiol*, 147(5): 393-403, 1996.
- 17- Osawa R.; Okitsu T.; Morozumi H.; Yamai S. Occurance of urease-Positive *Vibrio Parahaemolyticus* in Kanagawa Japan. *J Appl Environ Microbiol*, 62(2): 725-7, 1996.
- 18- Passwell JH.; Freier S.; Shor R.; Farzam N.; Block C.; Lison M.; Shiff E.; Ashkenazi S. *Shigella* lipopolysaccharide antibodies in pediatric populations. *J Pediatr Infect*, 14(10): 859-65, 1995.
- 19- Punete JL.; Bieber D.; Ramer Sw.; Marray W.; Schoolnic GK. The bundle forming pili of Enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Mol Microbiol*, 20(1): 87-100, 1996.
- 20- Ram S.; Khurana S.; Khurana SB.; Vadehra DV.; Sharma S.; Chnina RS. Microbiological quality incidence of organisms of public health important in food & water in Ludhiana. *Indian J Med Res*, 103: 253-8, 1996.
- 21- Richard L.; Guerrant. Inflammatory Enteritidis. In: Manodl, Doglas, Bennet(eds) *Principles and practice at infections disease*. From: Churchill Livingstone NewYork. 3th ed. 837-76, 1990.
- 22- Rico Martinez MG. Molecular biology in the pathogenesis of *Shigella* sp. and Entero invasive *Escherichia coli*. *J Rcv Latinoma Microbiol*, 37(4): 365, 1995.

- 23- Schutze GE.; Fawcett HA.; Lewno MJ.; Flick El.; Kirby RS. Prevalence of Salmonella enteritidis in poultry shell eggs in Arkansas. J South Med, 39(9): 889-91, 1996.
- 24- Stanley Falkow.; John Mekalanos. The enteric bacilli and vibrios. In: Bernard D.Davis; Renato Dulbecco; Herman N. Eisen; Harold S. Ginsberg. Microbiology. From: Lippincott. 14th ed. 591-86, 1990.
- 25- Wilson JB.; Clarke RC.; Renwick SA.; Rahn K.; Johnson RP.; Karmali MA.; Lior H.; Alves D.; Gyles C.; Sandha KS.; Mc Enen SH.; Spika JS. Vero cytotoxigenic Escherichia coli infection in dairy farm families. J Infect Dis, 174(5): 1021-7, 1996.